



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑰ Offenlegungsschrift
⑯ DE 100 17 823 A 1

⑮ Int. Cl.⁷:
G 02 B 21/06
G 02 B 21/16

DE 100 17 823 A 1

⑯ Aktenzeichen: 100 17 823.5
⑯ Anmeldetag: 10. 4. 2000
⑯ Offenlegungstag: 18. 10. 2001

⑯ Anmelder:
Till I.D. GmbH, 82166 Gräfelfing, DE
⑯ Vertreter:
Möbus und Kollegen, 81739 München

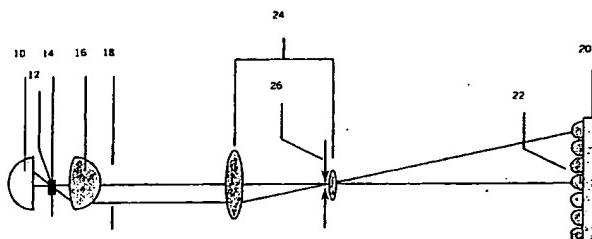
⑯ Erfinder:
Uhl, Rainer, Prof. Dr., 82166 Gräfelfing, DE
⑯ Entgegenhaltungen:
DE 37 34 691 C2
DE 198 01 139 A1
DE 39 06 555 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ Mikroskopische Beleuchtungsvorrichtung

⑯ Die vorliegende Erfindung betrifft gemäß einem Aspekt eine Mikroskopvorrichtung, mit einer Einrichtung zum Beleuchten einer zu untersuchenden Probe (12), wobei die Beleuchtungseinrichtung eine Lichtquelle (20) und eine Abbildungsoptik (16, 24) umfaßt, welche das von der Lichtquelle emittierte Licht auf die Probe leitet. Die Lichtquelle (20) wird von einer Leuchtdiodenanordnung (22) gebildet. Ein anderer Aspekt der Erfindung betrifft eine Mikroskopvorrichtung für die Transmissionsbetrachtung einer Probe (110), mit einer Lichtquelle, einer Optik zum Ausleuchten eines Objektivs (116) mit dem Licht der Lichtquelle, welches dieses Beleuchtungslicht auf einen Bereich der Probe fokussiert, sowie einer jenseits der Probe angeordneten Reflektoreinrichtung (122), die so ausgebildet ist, daß sie durch die Probe transmittiertes Beleuchtungslicht auf den beleuchteten Bereich der Probe zurück reflektiert.



DE 100 17 823 A 1

Beschreibung

[0001] Üblicherweise werden als Lichtquelle für die Durchlichtbeleuchtung von Proben im Mikroskop Halogenlampen, bei besonders hohem Lichtbedarf auch Xenon- oder Quecksilber-Kurzbogenlampen, verwendet. Sie sorgen, im Zusammenspiel mit einer Kondensor genannten optischen Anordnung, für eine gleichmäßige Ausleuchtung der Probe. Bei der sogenannten Auflichtbeleuchtung dagegen, wie sie für die Fluoreszenz- oder Reflexionsmikroskopie benötigt wird, erfolgt die Beleuchtung durch das Objektiv, d. h. durch dieselbe Optik, durch die das Präparat betrachtet wird. Als Lichtquellen finden dabei bevorzugt Xenon- oder Quecksilber-Kurzbogenlampen Verwendung. Will man in einer Vorrichtung schnell zwischen Auf- und Durchlicht hin- und herschalten, macht sich besonders nachteilig bemerkbar, daß sich die genannten Lichtquellen nicht schnell an- oder abzuschalten bzw. in ihrer Intensität regeln lassen. Für ein Mikroskop, dessen sämtlichen Funktionen automatisch, z. B. durch einen Rechner, gesteuert werden sollen, mußte man sich deshalb bisher mit mechanischen Verschlüssen behelfen, und eine schnelle Intensitätsregelung war in gewissen Grenzen lediglich mit Hg-Lampen möglich.

[0002] Ein weiterer Nachteil bisheriger Durchlichtbeleuchtungen hat damit zu tun, daß biologische Präparate häufig einen sehr schlechten Kontrast aufweisen. Die meisten hochwertigen Durchlichtkondensoren sind deshalb für die Möglichkeit kontrastverstärkender Verfahren wie den Phasenkontrast nach Zernicke oder den differentiellen Interferenzkontrast nach Normarski ausgerüstet. Beide Verfahren erfordern jedoch nicht nur eine Manipulation des Beleuchtungslichtes, d. h. des Strahlengangs vor der Probe, sondern auch eine des Lichtes, nachdem es die Probe passiert hat. Dazu sind entweder spezielle Objektive erforderlich (Phasenkontrast) oder es müssen optische Elemente wie DIC-Prismen und Analysatoren in den Strahlengang eingebracht werden. Ersteres limitiert die Auswahl der Objektive und reduziert den Lichtdurchsatz ein wenig, letzteres reduziert ihn beträchtlich. Ein schnelles Umschalten zwischen einer optimalen, kontrastverstärkten Durchlicht- und einer lichtschwachen Fluoreszenzbeobachtung ist daher nicht möglich.

[0003] Die vorliegende Patentanmeldung nimmt sich der aufgezeigten Probleme an und skizziert zwei Lösungsansätze für eine Mikroskopvorrichtung mit einer Durchlichtbeleuchtung, die schnell an- und abgeschaltet und in ihrer Intensität schnell und flexibel verändert werden kann. Gleichzeitig ermöglicht sie ein schnelles Umschalten zwischen Auflicht- und Durchlicht und liefert kontrastreiche Durchlichtbilder, für deren Erzeugung die Lichtstrahlen hinter der Probe nicht beeinflusst werden müssen.

[0004] Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch eine Kondensor-basierte Mikroskopvorrichtung gelöst, wie sie in Anspruch 1 definiert ist. Bei dieser erfindungsgemäßen Lösung ist vorteilhaft, daß die Lichtquelle innerhalb von Mikrosekunden ein- oder ausgeschaltet werden kann und daß sich ihre Helligkeit über einen extrem weiten Bereich von außen auf einfache Weise variieren läßt, ohne daß sich die Farbtemperatur, d. h. die spektrale Zusammensetzung des Beleuchtungslichtes ändert. Gleichzeitig kann eine den Kontrast erhöhende schiefe Beleuchtung realisiert werden, welche sich sogar variabel gestalten lässt.

[0005] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfahrung, eine Mikroskop-Beleuchtungsvorrichtung zu schaffen, welche die Transmissionsbeleuchtung einer Probe erlaubt und dennoch möglichst gut und einfach in Funktions-einheit mit einer Auflichtbeleuchtung betreibbar ist.

[0006] Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Mikroskopvorrichtung, wie sie in Anspruch 10 definiert ist. Bei dieser erfindungsgemäßen Lösung ist vorteilhaft, daß trotz einer "Auflichtgeometrie" des Beleuchtungslichts, d. h. das Beleuchtungslicht wird mittels des Mikroskopobjektivs auf die dem Objektiv zugewandte Probenseite fokussiert, eine Transmissionsbeleuchtung der Probe möglich ist, da vom Objektiv auf die Probe fokussiertes Beleuchtungslicht, welches von der Probe transmittiert wird, mittels einer Reflektoreinrichtung wieder auf die Probe zurückreflektiert wird, die Probe neuerlich passiert und vom Objektiv zur Beobachtung aufgesammelt werden kann. Auf diese Weise ist die erfindungsgemäße Beleuchtungsvorrichtung sehr einfach in Funktionseinheit mit beispielsweise einer Epifluoreszenzanalyse zu betreiben, wobei für Trans- und Epi-Illumination die gleiche Lichtquelle verwendet werden kann, insbesondere wenn diese zwischen mehreren Wellenlängen oder Wellenlängenbereichen schnell umschaltbar ist. Grundsätzlich bietet die erfindungsgemäße Lösung eine völlig freie Wahl der Beleuchtungswellenlänge. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß durch entsprechende Ausgestaltung der Reflektoreinheit, d. h. durch eine unterschiedliche Reflektivität in unterschiedlichen Bereichen auf einfache Weise eine "schiefe Beleuchtung" der Probe erzielt werden kann, was den Kontrast der Transmissionsbildes in vorteilhafter Weise erhöht.

[0007] Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung ergeben sich aus den Unteransprüchen.

[0008] Im folgenden sind mehrere Ausführungsformen der Erfindung anhand der beigefügten Zeichnungen beispielhaft erläutert, wobei:

[0009] Fig. 1 schematisch die optischen Komponenten der Beleuchtungseinrichtung einer ersten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Mikroskop-Beleuchtungsvorrichtung zeigt;

[0010] Fig. 2 eine Aufsicht auf eine bei der Beleuchtungseinrichtung von Fig. 1 zu verwendende Lichtquelle zeigt;

[0011] Fig. 3 einen Schnitt durch eine zweite Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Mikroskopvorrichtung in einem ersten Betriebsmodus zeigt;

[0012] Fig. 4 eine schematische Aufsicht der Reflektorausfläche von Fig. 3 von unten ist; und

[0013] Fig. 5 eine Ansicht wie in Fig. 3 ist, wobei jedoch ein anderer Betriebsmodus gezeigt ist.

[0014] Fig. 1 zeigt schematisch die Beleuchtungseinrichtung einer Mikroskopvorrichtung, wobei ein Mikroskopobjektiv (10) vorgesehen ist, um von einer Probe (12) in einer Objektebene (14) ausgehendes Licht zu sammeln, welches über eine nachfolgende (nicht dargestellte) Optik zur Beleuchtung bzw. Detektion abgebildet wird. Auf der dem Mikroskop-Objektiv (10) gegenüberliegenden Seite der Probe (12) ist eine mit (16) bezeichnete Kondensoroptik vorgesehen, deren Aperturblende (18) in einer zur Position der Lichtquelle (20) konjugierten Ebene zu liegen kommt. Die Aufgabe der dazwischen liegenden Optik (24) ist es, diese Abbildung von Ebene (20) nach Ebene (18) zu bewerkstelligen und gleichzeitig die Leuchtfeldblenden-Ebene (26) des Kondensors homogen auszuleuchten. Zentrales Element der Beleuchtung ist die Lichtquelle (20), welche als Leuchtdiodenfeld (22) ausgebildet ist.

[0015] Ein Beispiel für solches Leuchtdiodenfeld ist in Fig. 2 gezeigt. Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 2 ist eine Mehrzahl von vorzugsweise identischen Leuchtdioden (28) in dichter Packung in konzentrischen Ringen angeordnet, die eine Kreisfläche überdecken. Auf diese Weise bilden die Dioden eine rotationssymmetrische Anordnung. Die Dioden müssen jedoch nicht unbedingt in Ringen angeordnet sein, sondern es kann auch eine andere dichte Anordnung

gewählt werden. Über eine Ansteuerung der Leucht-Dioden (entweder über die Diodenspannung oder den Diodenstrom) kann nunmehr die gewünschte Helligkeit erzeugt und sehr schnell variiert werden. Da bei der gezeigten optischen Anordnung jede Position in der LED-Ebene (20) genau einem Winkel in der Objektebene (14) entspricht, lässt sich über eine individuelle Ansteuerung der einzelnen Dioden ein individuelles Beleuchtungswinkel- und Intensitätsprofil mit optimaler Kontrastwirkung durch "schiefe Beleuchtung" herstellen. Diese Kontrast-Optimierung kann programmgesteuert erfolgen und es kann in Mikrosekunden zwischen verschiedenen Profilen und damit Kontrastschattierungen hin und hergeschaltet werden. Bei Verwendung einer schnellen Kamera im Zusammenspiel mit einem schnellen, zur Echtzeit-Bildverarbeitung tauglichen Rechner, können so sogar kontrastreiche Bilder erzeugt werden, die aus mit mehreren Beleuchtungsprofilen aufgezeichneten Einzelbildern berechnet sind.

[0016] Die Art der Leuchtdioden (28) bestimmt sich nach dem hauptsächlichen Verwendungszweck, wobei insbesondere auch "Weiße Leuchtdioden" oder Infrarot-Leuchtdioden verwendet werden können. Letztere liefern Licht, welches wegen der starken Wellenlängenabhängigkeit der Lichtstreuung biologischer Proben besonders gut in tiefer liegende Gewebeeschichten eindringen kann. Es ist jedoch auch denkbar, verschiedenfarbige LEDs im Diodenfeld unterzubringen um damit spektrale Information über gefärbte Untersuchungsobjekte zu gewinnen oder die Wellenlängenabhängigkeit nacheinander mit unterschiedlicher Wellenlänge aufgenommener Bilder zur Kontraststeigerung bei kontrastarmen Objekten einzusetzen.

[0017] Zur optimalen, hellen Ausleuchtung der Leuchtfeldblendenebene (26) werden vorzugsweise Leuchtdioden mit kleinem Abstrahlwinkel eingesetzt, welche nach innen geneigt sind und unmittelbar auf die Leuchtfeldblende weisen. Damit reduzieren sich die Anforderungen an die gesamte Optik.

[0018] Fig. 3 zeigt einen Teil einer Mikroskopvorrichtung (die Lichtquelle ist nicht dargestellt), die eine alternative Betrachtung einer Probe 110 in Transmission. d. h. im Durchlicht oder in Epifluoreszenz erlaubt. Dabei ist vorzugsweise eine gemeinsame Lichtquelle für die Transmissions- und Epifluoreszenz-Beleuchtung vorgesehen, welche vorzugsweise einen schnellen Wechsel zwischen verschiedenen Wellenlängen erlaubt und ein Anregungs- bzw. Beleuchtungsbündel 112 liefert, welches auf einen Strahlteiler 114 trifft und von diesem auf die Eintrittspupille eines Mikroskopobjektivs 116 abgelenkt wird. Zur Anregung der (Epi-)Fluoreszenz ist der Strahlteiler dichroitisch ausgelegt, d. h. er reflektiert das Anregungs- und transmittiert das Emissionslicht. Das für die Transmissionsbeleuchtung vorgesehene, meist längerwellige Licht fällt zwar mit dem Transmissionsbereich des Strahlteilers zusammen, jedoch wird gewöhnlich noch genügend Licht vom Strahlteiler reflektiert, daß eine ausreichend helle Transmissionsbeleuchtung realisiert werden kann.

[0019] Um eine möglichst gute Einkopplung des Beleuchtungs- bzw. Anregungslichts in die Probe zu ermöglichen, ist das Objektiv 116 als Tauchobjektiv ausgebildet, welches direkt in ein Präparationsmedium 118 eintaucht, in welchem sich die Probe 110 befindet. Die Probe 110 wird von einem Objekträger bzw. Deckglas 120 getragen. Durch diese Konstellation kann eine Reflexion des Beleuchtungs- bzw. Anregungslichts vor dem Eintritt in die Probe 110 möglichst weitgehend vermieden werden. Die Probe 110 ist im wesentlichen transparent, und es handelt sich dabei vorzugsweise um ein biologisches Präparat. Auf der dem Mikroskopobjektiv 116 gegenüberliegenden Seite der Probe 110,

d. h. unterhalb des Objekträgers 120, ist eine Reflektoreinrichtung 122 vorgesehen, die von einem hemisphärischen transparenten Körper, vorzugsweise Glas, gebildet wird, wobei sich vorzugsweise zwischen der ebenen Begrenzungsfäche und dem Objekträger 120 ein Medium 124 befindet, welches dazu dient, Abbildungsfehler weitgehend zu vermeiden und bei welchem es sich vorzugsweise um Wasser oder ein Immersionsöl handelt, wobei jedoch auch ein Luftspalt denkbar ist.

10 [0020] Der wesentliche Teil der Reflektoreinrichtung 122 wird von einer hemisphärischen äußeren Begrenzungsfäche 126 gebildet, welche bei einer ersten Ausführungsform vollständig verspiegelt ist, um möglichst das gesamte durch die Probe 110 hindurch gelangende Beleuchtungslicht auf den

15 mittels des Mikroskopobjektivs 116 von oben beleuchteten Bereich der Probe zurück zu reflektieren. Die Verspiegelung ist dabei auf der Außenseite der reflektierenden Fläche 126 vorgesehen und wirkt zumindest im Wellenlängenbereich des Beleuchtungslichts stark reflektierend. Die Reflektoreinrichtung 122 wirkt auf diese Weise als Ersatz für eine separate Durchlichtquelle und den entsprechenden Kondensor.

[0021] Das in den beleuchteten Bereich der Probe 110 von der Fläche 126 zurück reflektierte Beleuchtungslicht wird mittels des Mikroskopobjektivs 116 aufgesammelt und mit

25 tels einer geeigneten Optik auf das Auge oder einen Detektor abgebildet. Die Wellenlänge des für die Beleuchtung verwendeten Lichts liegt dabei vorzugsweise im Durchlaßbereich des Strahlteilers 114, so daß der größte Teil des von dem Objektiv 116 aufgesammelten, durch die Probe 110

30 transmittierten Lichts vom Strahlteiler 114 durchgelassen wird. Gleichzeitig sollte der Strahlteiler auch für das von dem Objektiv 116 aufgesammelte Fluoreszenzlicht der Probe 110, transmittierend wirken. Selbst im Durchlaßbereich wird normalerweise von einem dichroitischen Strahlteiler noch genügend Licht reflektiert um das Präparat ausreichend hell zu beleuchten.

[0022] Um bei der Beleuchtung und Transmissionsbeobachtung der Probe 110 ein möglichst kontrastreiches Bild zu erhalten, kann die Reflektoreinrichtung 122 so ausgebil-

40 det sein, daß sie nicht über die gesamte Halbkugel das Beleuchtungslicht gleichmäßig stark reflektiert, sondern vielmehr nur in einem bestimmten Bereich für die Wellenlänge(n) des Beleuchtungslichts als Spiegel wirkt, um so eine "schiefe Beleuchtung" der Probe 110 zu erzielen. Eine solche Ausgestaltung ist beispielhaft in Fig. 4 gezeigt, wobei z. B. lediglich weniger als ein Viertel 128 der hemisphärischen Fläche 126 verspiegelt ist, während der übrige Bereich 130 für die Wellenlängen des Beleuchtungslichts nicht als Spiegel wirkt.

45 [0023] Die in Fig. 3 gezeigte Anordnung bildet ein höchst vielseitiges und flexibles Gesamtsystem für die kombinierte Transmissions- und Epi-Fluoreszenzmikroskopie. Es erfordert keine zusätzliche Durchlaßbeleuchtung und kann mit einer einzigen Lichtquelle wahlweise und schnell umstellbar

55 durch die Änderung der Wellenlänge der Lichtquelle zwischen Beleuchtungslicht und Anregungslicht als Transmissionsmikroskop oder als Epi-Fluoreszenzmikroskop betrieben werden kann. Als schnell zwischen den Wellenlängen umschaltbare Lichtquelle kann beispielsweise eine Monochromator-basierende Lichtquelle verwendet werden, wie sie in DE 42 28 366 A1 beschrieben ist.

60 [0024] Statt, wie gezeigt, mit einem Tauchobjektiv ausgestattet zu sein, kann das Mikroskop auch als inverses Mikroskop ausgebildet sein, wobei es dann vorteilhaft sein kann, die Reflektoreinrichtung in das Präparationsmedium der Probe einzutauchen.

[0025] Besonders vorteilhaft läßt sich eine Anordnung gemäß Fig. 3 für die Zwei-Photonen-Mikroskopie (TPM) ver-

wenden, weil dabei die Reflektorfläche 126 zur Steigerung der Sammeleffizienz für Fluoreszenzphotonen verwendet werden kann. Dazu muß die Fläche 126 so verspiegelt sein, daß das sichtbare Emissionslicht vollständig, während das Licht für die schiefe Beleuchtung nur teilweise reflektiert wird, z. B. von einem Quadranten 128 wie er in Fig. 4 gezeigt ist (der nicht verspiegelte Teil ist dabei mit dem Bezugszeichen 130 bezeichnet). Auf diese Weise läßt sich mit einer einzigen Optikkomponente die Sammeleffizienz maximal um einen Faktor 2 steigern und gleichzeitig eine schiefe Beleuchtung realisieren.

[0026] Fig. 5 zeigt eine Ausführungsform der Erfindung, bei welcher im wesentlichen die gleiche Optik wie in Fig. 3, jedoch in einer für eine andere Betriebsart optimierten Form verwendet wird. Hierbei handelt es sich um die sogenannte "Total Internal Reflection Fluorescence" (TIRF)-Mikroskopie, bei der ein Laserstrahl 150 von außen durch einen nicht reflektierenden Bereich 130 der Reflexionsfläche 126 in das Innere der Reflexionseinrichtung 122 eingekoppelt und an der Grenzfläche zwischen dem Objekträger 120 und der Probe 110 bzw. dem Präparationsmedium 118 total reflektiert wird. Auf diese Weise beleuchtet der Laserstrahl 150 die Probe 110 nur durch die Nahfeldwirkung an der Stelle der Totalreflexion. Da sich der Einfallswinkel α des anregenden Laserstrahls 150 und damit die Eindringtiefe des Laserlichts in die Probe 110 variieren läßt, kann die Anordnung optimal an die speziellen Umstände angepaßt werden. Das in dem von dem Laserstrahl 150 beleuchteten Teil der Probe 110 emittierte Emissionslicht wird von dem Objektiv 116 aufgesammelt und einer Detektion zugeführt.

Patentansprüche

1. Mikroskopvorrichtung, mit einer Einrichtung zum Beleuchten einer zu untersuchenden Probe (12), wobei die Beleuchtungseinrichtung eine Lichtquelle (20) und eine Abbildungsoptik (16, 24) umfaßt, welche das von der Lichtquelle emittierte Licht auf die Probe leitet, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (20) von einer Leuchtdiodenanordnung (22) gebildet wird.
2. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungseinrichtung für eine Durchlichtbeleuchtung ausgebildet ist.
3. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Leuchtdiodenanordnung (22) von einem zweidimensionalen Diodenfeld gebildet wird.
4. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Abbildungsoptik einen Kondensor (16) mit Aperturblende (18) umfaßt und so ausgebildet ist, daß das Diodenfeld (22) in die Aperturblende des Kondensors abgebildet wird.
5. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Abbildungsoptik (16, 24) so ausgebildet ist, daß eine homogene Ausleuchtung der Leuchtfeldblende (26) und damit des Objektfelds (14) erreicht wird.
6. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Leuchtdioden (22) nach innen geneigt sind, so daß die gewünschte homogene Ausleuchtung der Leuchtfeldblende (26) mit minimalem optischen Aufwand erreicht wird.
7. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 3 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei den Leuchtdioden (22) um Weißlichtdioden oder Infrarotdioden handelt.
8. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 3 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Dioden in dem Dioden-

feld (22) unterschiedliche Abstrahlwellenlängen haben können individuell ansteuerbar sind.

9. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 3 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Dioden in dem Diodenfeld (22) hinsichtlich ihrer Helligkeit individuell steuerbar sind, um eine Kontrasterhöhung durch schiefe Beleuchtung zu ermöglichen.

10. Mikroskopvorrichtung für die Transmissionsbeobachtung einer Probe (110), mit einer Lichtquelle, einer Optik zum Ausleuchten eines Objektivs (116) mit dem Licht der Lichtquelle, welches dieses Beleuchtungslicht auf einen Bereich der Probe fokussiert, sowie einer jenseits der Probe angeordneten Reflektoreinrichtung (122), die so ausgebildet ist, daß sie durch die Probe transmittiertes Beleuchtungslicht auf den beleuchteten Bereich der Probe zurückreflektiert.

11. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikroskopvorrichtung für eine Epifluoreszenz-Analyse der Probe (110) ausgebildet ist, wobei die Anregungslichtquelle für die Epifluoreszenzbetrachtung zugleich die Beleuchtungslichtquelle für die Transmissionsbeobachtung der Probe bildet.

12. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Wellenlänge der Lichtquelle veränderbar bzw. selektierbar ist.

13. Mikroskopvorrichtung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Reflektoreinrichtung (122) eine konkav, im Wellenlängenbereich des Beleuchtungslicht reflektierende Fläche (126) umfaßt.

14. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die reflektierende Fläche (126) hemisphärisch ausgebildet ist.

15. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Reflektoreinrichtung (122) von einem transparenten Körper gebildet wird, dessen probenabgewandte Begrenzung von der reflektierenden Fläche (126) gebildet wird.

16. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 13 bis 15 dadurch gekennzeichnet, daß für den Wellenlängenbereich des Beleuchtungslichts die reflektierende Fläche (126) im wesentlichen vollständig verspiegelt ist.

17. Mikroskopvorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß für den Wellenlängenbereich des Beleuchtungslichts nur ein Teil (128) der Fläche (126) im wesentlichen verspiegelt ist, um eine Kontrasterhöhung mittels schiefer Beleuchtung zu realisieren.

18. Mikroskopvorrichtung nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß das Objektiv (116) als Tauchobjektiv ausgebildet ist und mittels eines Immersionsmediums (118) an die Probe (110) optisch angekoppelt ist.

19. Mikroskopvorrichtung nach einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Probe (110) auf der von dem Objektiv (116) abgewandten Seite von einem transparenten Objekträger (120) getragen wird.

20. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß der Reflektorkörper (122) mittels eines Immersionsmediums (124) an den Objekträger (120) optisch angekoppelt ist.

21. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 13 oder einem darauf rückbezogenen Anspruch, dadurch gekennzeichnet, daß die reflektierende Fläche (126) auch im Wellenlängenbereich des von der mit Anregungslicht beleuchtete Probe (110) emittierten Fluoreszenzlichts reflektierend ist.

22. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß für den Wellenlängenbereich des Beleuchtungslichts nur ein Teil (128) der reflektierenden Fläche (126) verspiegelt ist, um eine Kontrasterhöhung mittels schiefer Beleuchtung zu realisieren, während für den Wellenlängenbereich des Fluoreszenzlichts die Fläche über ihren gesamten Bereich reflektierend ist. 5

23. Mikroskopvorrichtung nach einem der Ansprüche 10 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß das Licht der Lichtquelle mittels Reflexion an einem dichroitischen Strahlteilers (114) in das Mikroskopobjektiv (116) eingekoppelt wird, wobei der Strahlteiler für das Beleuchtungslicht eine Transmission von mehr als 50% aufweist. 10

24. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 23, sofern auf Anspruch 11 rückbezogen, dadurch gekennzeichnet, daß der Strahlteiler (114) für das Anregungslicht im wesentlichen undurchlässig ist, während er für das Fluoreszenzlicht im wesentlichen durchlässig ist. 15

25. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Reflektoreinrichtung (122) so ausgebildet ist, daß sie eine Einkopplung eines Laserstrahls (150) von außen durch die Reflektoreinrichtung hindurch unter einem solchen Winkel erlaubt, daß eine Totalreflexion des Laserstrahls an der Grenzfläche zu der Probe (110) stattfindet, die der Reflektoreinrichtung zugewandt ist, wodurch im Nahfeldbereich an der Grenzfläche eine Fluoreszenzanregung der Probe erfolgt. 20

26. Mikroskopvorrichtung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die Einkoppelung des Laserstrahls (150) in einem nicht reflektierenden Bereich (130) der Reflektoreinrichtung (122) erfolgt. 25

30

35

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

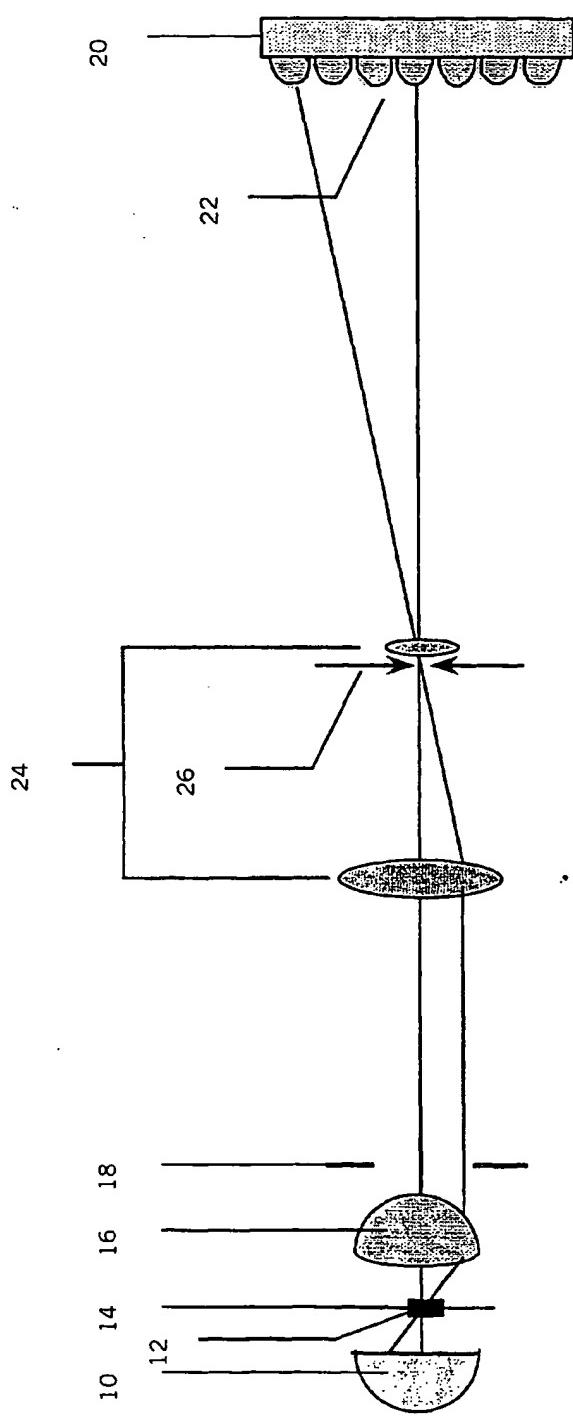
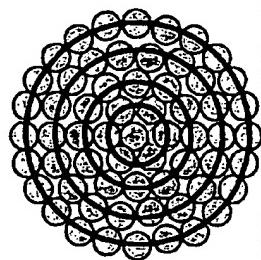


Fig. 2



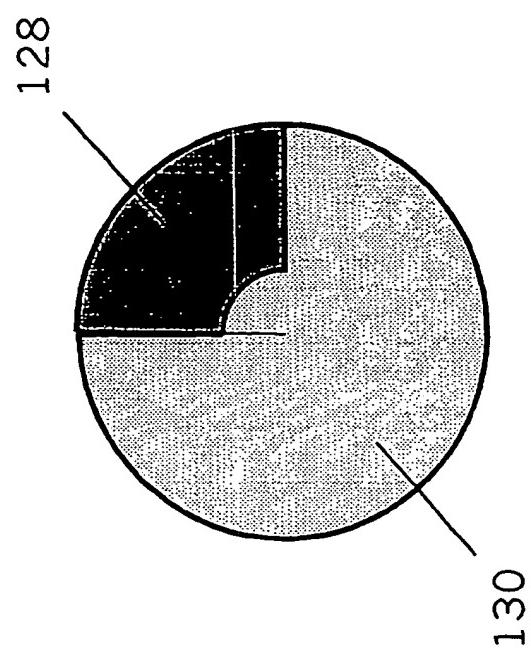


Fig. 4

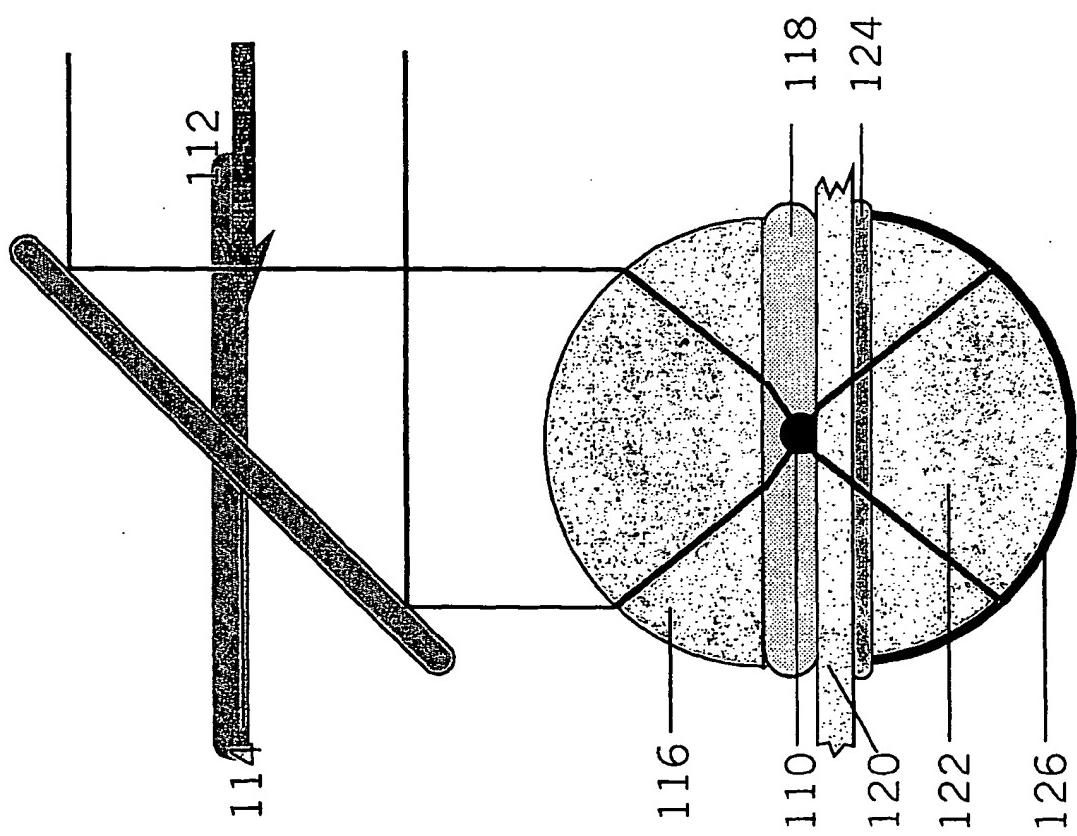


Fig. 3

Fig. 5

